

AF

(19) KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

KOREAN PATENT ABSTRACTS

(11)Publication number: 1020030018698: A
 (43)Date of publication of application: 30.08.2001

(21)Application number: 1020010052952
 (22)Date of filing: 06.03.2003

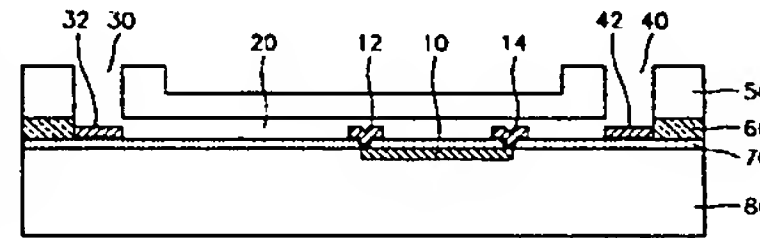
(71)Applicant: POSTECH FOUNDATION
 (72)Inventor: CHOI, YO HAN
 KO, SANG CHUN
 LEE, CHU HUI
 LEE, SEUNG SEOP
 SON, SANG UK

(51)Int. Cl. B81B 7 /02

(54) CELL NUMBER COUNTING APPARATUS AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

(57) Abstract:

PURPOSE: A cell number counting apparatus and a manufacturing method thereof are provided to simplify manufacturing procedures and reduce size of the apparatus by manufacturing the apparatus through the micro electro mechanical system, while achieving improved accuracy of cell number counting. CONSTITUTION: A cell number counting apparatus comprises a capillary(20) formed on a silicon substrate(80), and which serves as a passage for the liquid containing cells to be counted; an injected cell storing unit(30) formed at an end of the capillary, and which stores the liquid injected into the capillary; a discharged cell storing unit(40) formed at the other end of the capillary, and which stores the liquid discharged from the capillary; and a cell sensing unit formed in the silicon substrate and disposed beneath the capillary, and which senses the cell number by measuring the resistance changing in accordance with the quantity of the light permeation determined by the dyed degree of the cell flowing along the capillary. The capillary, injected cell storing unit, discharged cell storing unit and the cell sensing unit are manufactured through a micro electro mechanical system.



copyright KIPO 2003

Legal Status

Date of request for an examination (20010830)
 Notification date of refusal decision (00000000)
 Final disposal of an application (registration)
 Date of final disposal of an application (20031031)
 Patent registration number (1004078170000)

Date of registration (20031119)

Number of opposition against the grant of a patent ()

Date of opposition against the grant of a patent (00000000)

Number of trial against decision to refuse ()

Date of requesting trial against decision to refuse ()

(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(51) Int. Cl. 7
B81B 7/02

(11) 공개번호 특2003-0018698
(43) 공개일자 2003년03월06일

(21) 출원번호 10-2001-0052952
(22) 출원일자 2001년08월30일

(71) 출원인 학교법인 포항공과대학교
경북 포항시 남구 효자동 산31번지

(72) 발명자 이승섭
경상북도포항시남구지곡동756교수아파트9동303호
고상춘
경상북도경주시안강읍산대리산134번지한동화성타운303동305호
최요한
경상북도포항시남구효자동산31포항공과대학교생명과학과
이추희
미합중국로스앤젤레스선셋블러바드4650,CA90027칠드른즈하스피털로스앤젤레스메일스
탑#54,헴/온크디비전
손상옥
경상북도포항시남구지곡동대학원아파트1동103호

(74) 대리인 이영필
이해영

심사청구 : 있음

(54) 세포 계수장치 및 그 제조방법

요약

본 발명은 MEMS 공정에 의한 모세관, 저장부, 세포 감지부를 포함하는 초소형 세포 계수장치 및 그 제조방법에 관한 것이다. 본 발명의 세포 계수장치는, 실리콘 기판 위에 형성되고 상기 계수하고자 하는 세포가 포함된 액체가 이동하는 통로인 모세관; 상기 모세관 일단에 형성되고 상기 모세관에 주입되는 세포가 포함된 액체가 저장되는 주입세포 저장부; 상기 모세관 타단에 형성되고 상기 모세관에서 유출되는 세포가 포함된 액체가 저장되는 유출세포 저장부; 및 상기 실리콘 기판 내에 형성되고 상기 모세관의 소정의 부위 하부에 위치하며 상기 모세관을 이동하는 세포의 염색 정도에 따라 투과되는 빛의 투과량에 따라 변화되는 보론의 전기저항을 측정함으로써 세포의 개수를 감지하는 세포 감지부를 포함하고, 상기 세포 감지부는 보론(boron)이 도핑되어 형성된 영역이다. 따라서, 본 발명에 따른 세포 계수장치는 MEMS 공정을 사용하여 일체화되고 소형화되어 고가의 기존 대형 세포 계수기를 대체할 수 있다. 또한, 세포 감지부로서 빛에 반응하는 전기저항 검출기를 이용하여 살아있는 세포와 죽어있는 세포의 수를 신속하면서도 정확하게 차별 계수하

는 기능을 제공함으로써 기존의 복잡한 생화학적 차별 계수 방법을 대신할 수 있다.

대표도

도 2

명세서

도면의 간단한 설명

도 1은 종래의 세포 계수장치의 구성도이다.

도 2는 본 발명에 의한 세포 계수장치의 단면도이다.

도 3a 내지 도 3c는 본 발명에 의한 세포 계수장치의 평면도이다.

도 4a 내지 도 4k는 본 발명에 의한 세포 계수장치의 공정 단계별 수직단면도이다.

< 도면의 주요 부분에 대한 부호의 설명 >

10...보론 도핑 영역, 20...모세관,

30...주입세포 저장부, 40...유출세포 저장부,

50...유리판, 60...SU-8,

70...산화막, 80...실리콘 기판

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

본 발명은 세포 계수장치 및 그 제조방법에 관한 것으로, 특히 마이크로 전자 기계 장치(MEMS, Micro Electro Mechanical System, 이하 'MEMS'라 칭한다) 공정에 의한 모세관(capillary), 저장부(reservoir), 세포 감지부를 포함하는 초소형 세포 계수장치 및 그 제조방법에 관한 것이다.

한편, 본 발명은 세포를 포함한 액체를 이송시키면서 세포가 생물학적으로 살아있는지 죽어있는지를 판별하고 각각 계수할 수 있도록 된 세포 계수장치 및 그 제조방법에 관한 것이다.

또 다른 한편, 본 발명은 MEMS 기술을 이용하여 제조공정을 간단히 하고 그 크기를 소형화함은 물론 조사된 빛에 반응하는 보론의 전기저항검출기를 이용해서 살아있는 세포와 죽어있는 세포에 대한 신속한 계수결과를 제공할 수 있도록 한 세포 계수장치 및 그 제조방법에 관한 것이다.

당업자에게 잘 알려진 바와 같이, 의료용이나 생물학 계통 실험용으로 세포의 정확한 계수와 분류는 여러 세부 분야에서 필수적으로 요구되고 있으며, 특히 그 특성상 세포의 계수와 분류는 짧은 시간동안 적은 양으로 이루어져야 한다고 알려지고 있다. 이를 위한 세포 계수기 및/또는 분류장치에 관한 개발과 연구가 오래도록 진행되어 오고 있으나, 기기의 대형화와 이에 따른 제작비용의 상승이 걸림돌로 작용하고 있다. 이를 해소하기 위한 방편으로 MEMS 공정을 이용한

연구가 1990년대 이후로 활발하게 진행되어오고 있다.

한편, 세포 계수기는 소량의 액체를 운반매체로 하는데, 소량의 액체를 운반매체로 하는 연구는 단백질 분리나 DNA 분리에 대해 주로 연구되어 왔다. 액체의 운반방법으로 전기영동(electrophoresis) 방법이 사용되었고, 이 방법을 이용한 최초의 연구는 1937년 티셀리우스(Tiselius)에 의해 사람의 혈청에 있는 단백질을 분리하는데서 출발하였다. 한편, 전기영동 방법의 일종인 전기삼투(electro osmosis)는 전기영동의 운반매체로 모세관을 사용하는 경우 나타나는 현상으로 1967년 헤르텐(Hjerten)에 의해 처음으로 수행되었고 다른 운반매체에 비해 속도가 빠르고 유속의 단면이 일정하다는 장점이 있다.

도 1은 종래의 세포 계수장치의 구성도이다.

도 1에 도시된 세포 계수장치는 저장기(102, 104), 모세관(107), 검출기(110), 신호처리기(112) 및 전원공급장치(114)를 포함한다. 모세관 입구(106) 쪽 저장기(102)에는 계수될 세포가 저장되고, 모세관 출구(108) 쪽 저장기(104)에는 계수된 세포가 저장된다. 전원공급장치(114)에 의해 전원이 공급되면 전기삼투에 의해 저장기(102)에 저장된 세포가 모세관 입구(106)에 주입되고 모세관(107)을 통해 검출기(110)를 경유하여 모세관 출구(108)에서 저장기(104)로 유출된다. 세포가 검출기(110)를 통과하는 동안 신호처리기(112)에 의해 세포가 계수된다. 그러나, 상기 종래의 세포 계수장치에 있어서, 모세관(107)의 지름이 수십 마이크로미터로 초소형인 반면, 검출기(110) 및 저장기(102, 104)는 상대적으로 크기가 크므로, 모세관, 검출기 및 저장기를 일체화된 장치로 구성할 필요가 있다.

한편, 살아있는 세포와 죽어있는 세포를 구분하여 계수하는 것이 의료용과 생물학 계통의 실험용으로 필요하다. 이러한 세포의 생사여부에 따른 구분 계수는 세포의 염색액에 대한 차별적 반응을 현미경을 통하여 구분하거나, 세포외막에 노출되는 표지단백질의 변화나 염색체의 염색액에 대한 차별적 반응을 생화학적으로 조사하는 등의 방법을 통하여 이루어진다. 그러나, 전자의 신속성과 후자의 정확성이 동시에 만족되는 계수 방법이 존재하지 않았다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

본 발명이 이루고자 하는 기술적 과제는, 상기와 같은 단점들을 해결하기 위하여, MEMS 공정에 의한 모세관, 저장부, 세포 감지부를 포함하는 초소형 세포 계수장치 및 그 제조방법을 제공하는 데 있다.

본 발명이 이루고자 하는 다른 기술적 과제는, 세포를 포함한 액체를 이송시키면서 세포가 생물학적으로 살아있는지 죽어있는지를 판별하고 각각 계수할 수 있도록 된 세포 계수장치 및 그 제조방법을 제공하는 데 있다.

본 발명이 이루고자 하는 또 다른 기술적 과제는, MEMS 기술을 이용하여 제조공정을 간단히 하고 그 크기를 소형화함은 물론 조사된 빛에 반응하는 보론의 전기저항검출기를 이용해서 살아있는 세포와 죽어있는 세포에 대한 신속한 계수 결과를 제공할 수 있도록 한 세포 계수장치 및 그 제조방법을 제공하는 데 있다.

발명의 구성 및 작용

본 발명은 상기한 기술적 과제를 달성하기 위하여, 세포를 염색하고 조사된 빛의 투과량에 따라 세포를 계수하는 세포 계수장치에 있어서, 실리콘 기판 위에 형성되고 상기 계수하고자 하는 세포가 포함된 액체가 이동하는 통로인 모세관; 상기 모세관 일단에 형성되고 상기 모세관에 주입되는 세포가 포함된 액체가 저장되는 주입세포 저장부; 상기 모세관 타단에 형성되고 상기 모세관에서 유출되는 세포가 포함된 액체가 저장되는 유출세포 저장부; 및 상기 실리콘 기판 내에 형성되고 상기 모세관의 소정의 부위 하부에 위치하며 상기 모세관을 이동하는 세포의 염색 정도에 따라 투과되는 빛의 투과량에 따라 변화되는 저항을 측정함으로써 세포의 개수를 감지하는 세포 감지부를 포함하고, 상기 모세관, 주

입세포 저장부, 유출세포 저장부 및 세포 감지부는 MEMS 공정을 이용하여 형성되는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치를 제공한다.

바람직하기로는, 상기 세포 감지부는 보론(boron)이 도핑되어 형성된 영역인 것을 특징으로 한다.

바람직하기로는, 상기 세포 염색은 트리판 블루(trypan blue)로 된 것을 특징으로 한다.

바람직하기로는, 세포의 생사여부에 따른 세포 염색의 차이를 이용하여 살아있는 세포와 죽어있는 세포를 각각 계수하는 것을 특징으로 한다.

바람직하기로는, 모세관 전기영동(electrophoresis)에 의해 상기 세포가 이동되도록 하기 위하여 상기 모세관 양측에 전극 기능을 하는 연결부를 더 구비하여 상기 세포 계수장치의 외부에 구비된 전원 공급 장치에 연결하도록 하는 것을 특징으로 한다.

바람직하기로는, 상기 모세관 전기영동은 전기삼투(electro osmosis)인 것을 특징으로 한다.

바람직하기로는, 상기 세포 감지부의 저항을 측정하기 위하여 상기 세포 감지부 양측에 전극 기능을 하는 연결부를 더 구비하여 상기 세포 계수장치의 외부에 구비된 저항 측정 장치에 연결하도록 하는 것을 특징으로 한다.

본 발명은 상기한 다른 기술적 과제를 달성하기 위하여, 세포를 염색하고 조사된 빛의 투과량에 따라 세포를 계수하는 세포 계수장치를 제조하는 방법에 있어서, 실리콘 기판의 소정 부위에 보론 도핑 영역을 생성하는 제1 단계; 상기 보론 도핑 영역의 저항을 측정하기 위해 상기 보론 도핑 영역의 양끝에 전극 기능을 하는 금속층을 형성하는 제2 단계; 상기 보론 도핑 영역의 상부에 세포가 포함된 액체가 흐르는 모세관을 형성하기 위한 채널을 형성하는 제3 단계; 및 유리판에 구멍을 뚫고 상기 실리콘 기판 위에 접착시켜 상기 채널의 양끝에 세포가 포함된 액체가 저장되도록 하는 저장부를 형성하고 상기 실리콘에 형성된 채널과 유리판 사이에 모세관을 형성하는 제4 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치 제조방법을 제공한다.

바람직하기로는, 상기 제1 단계 다음에 상기 보론 도핑 영역에 빛이 투과되도록 하고 상기 보론 도핑 영역을 보호하기 위한 산화막을 형성하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 한다.

바람직하기로는, 상기 제3 단계에서 채널을 형성하기 위해 음성감광제(negative photoresist)인 SU-8을 도포하는 것을 특징으로 한다.

바람직하기로는, 상기 제2 단계의 금속층 형성시에 모세관 전기영동에 의해 상기 세포가 이동되도록 하기 위하여 상기 모세관 양측에 전극 기능을 하는 금속층을 더 형성하는 것을 특징으로 한다.

바람직하기로는, 상기 모세관 전기영동은 전기삼투인 것을 특징으로 한다.

이하, 첨부된 도면을 참조하여 본 발명의 바람직한 실시예에 대해서 보다 상세히 설명하기로 한다. 본 발명을 설명함에 있어서 관련된 공지기술 또는 구성에 대한 구체적인 설명이 본 발명의 요지를 불필요하게 흐릴 수 있다고 판단되는 경우에는 그 상세한 설명은 생략할 것이다. 그리고, 후술되는 용어들은 본 발명에서의 기능을 고려하여 정의된 용어들로서 이는 사용자, 운용자의 의도 또는 관례 등에 따라 달라질 수 있다. 그러므로 그 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 할 것이다.

도 2는 본 발명에 의한 세포 계수장치의 단면도이다.

도 2를 참조하면, 본 발명에 의한 세포 계수장치는 MEMS 공정을 이용하여 형성되는 것으로, 세포 감지부로서의 보론(boron) 도핑 영역(10), 모세관(20), 주입세포 저장부(30) 및 유출세포 저장부(40)를 포함한다. 상기 모세관(20)은 계수하고자 하는 세포가 포함된 액체가 이동하는 통로이고, 모세관(20) 일단에 형성되는 주입세포 저장부(30)는 모세관(20)에 주입되는 세포가 포함된 액체를 저장하는 부분이며, 모세관(30) 타단에 형성되는 유출세포 저장부(40)는 모세관(20)에서 유출되는 세포가 포함된 액체를 저장하는 부분이다. 상기 보론 도핑 영역(10)은 실리콘 기판(80) 내에 형성되고 모세관(20)의 소정의 부위 하부에 위치하며 모세관(20)을 이동하는 세포의 염색 정도에 따라 투과되는 빛의 투과량에 따라 변화되는 보론의 전기저항을 측정함으로써 세포의 개수를 감지하는 세포 감지부이다.

한편, 모세관 전기영동(electrophoresis)의 일종인 전기삼투(electro osmosis)에 의해 세포를 포함한 액체가 이동되도록 하기 위하여 모세관(20) 양측에 전극 기능을 하는 연결부(32, 42)를 더 구비하여 세포 계수장치의 외부에 구비된 전원 공급 장치(미도시)에 연결하도록 한다. 또한, 보론 도핑 영역(10)의 저항을 측정하기 위하여 보론 도핑 영역(10) 양측에 전극 기능을 하는 연결부(12, 14)를 더 구비하여 세포 계수장치의 외부에 구비된 저장 측정 장치(미도시)에 연결하도록 한다.

또한, 보론 도핑 영역(10)에 빛이 투과되도록 하고 보론 도핑 영역(10)을 보호하기 위하여 산화막(70)을 형성하고, 산화막(70)위에 음성감광제(negative photoresist)인 SU-8(60)을 도포하여 세포를 포함한 액체가 이동하는 채널을 만들기 위하여 자외선 마스크로 노광한다. 상기 채널은 그 외에 유리막(50)을 덮어 모세관(20)을 형성하게 된다.

본 발명에 따른 세포 계수장치의 계수 작용을 살펴보면 다음과 같다. 계수하고자 하는 세포는 트립판 블루(trypsin blue)로 염색되어 주입세포 저장부(30)에서 모세관(20)내로 주입된다. 전기삼투에 의한 세포이송을 위해 모세관 양끝의 저장부(30, 40)에 설치된 전극(32, 42)에 전원을 인가하고 보론 도핑 영역(10)에 있는 전극(12, 14)으로부터 저항 변화를 감지한다. 유리판(50)을 통해 조사되는 빛은 모세관(20)을 이동하는 세포의 염색 정도에 따라 보론 도핑 영역(10)에 도달하는 빛의 세기가 변화되고, 보론 도핑 영역(10)에 조사된 빛의 세기에 따라 보론 도핑 영역(10)의 전기적 저항값이 달라지게 되므로써 모세관(20)을 이동하는 세포의 개수를 셀 수 있다. 한편, 저항 변화는 세 단계로 나뉘어지는데, 세포의 생사 여부에 따른 염색의 차이에 기반을 둔다. 즉, 트립판 블루는 죽어있는 세포만 강하게 염색하므로, 세포가 이동중이 아닌 경우 가장 낮은 단계의 저항값을 나타내고, 살아있는 세포가 이동중인 경우 중간단계의 저항값을 나타내며, 죽어있는 세포가 이동중인 경우 가장 높은 단계의 저항값을 나타낸다. 셀 개수 측정시 정확성을 높이기 위해 항온에서 측정을 수행한다.

도 3a, 도 3b 및 도 3c는 본 발명에 의한 세포 계수장치의 평면도로서, 도 3a는 유리판(50) 또는 유리 덮개를 도시하고, 도 3b는 산화막 위의 전극 배치를 도시하며, 도 3c는 배치된 전극 위에 SU-8로 만든 채널을 도시한다.

도 3a, 도 3b 및 도 3c를 참조하여 상술한 세포 계수장치를 추가로 간단히 설명한다. 도 3a에 도시된 유리판(50)은 모세관(20; 도 2)을 형성하기 위한 덮개 역할을 하며 보론 도핑 영역(10; 도 2)에 빛이 투과될 수 있도록 한다. 또한, 유리판(50)에 구멍을 뚫어 주입세포 저장부(30) 및 유출세포 저장부(40)를 형성한다.

도 3b는 산화막(70) 위의 전극 배치를 도시하는 것으로, 모세관 전기영동의 일종인 전기삼투에 의해 세포를 포함한 액체가 이동되도록 하기 위하여 모세관(20; 도 2) 양측의 저장부(30, 40; 도 2) 위치에 전극(32, 42)을 구비하고, 상기 전극(32, 42)을 세포 계수장치의 외부에 구비된 전원 공급 장치(미도시)에 연결하기 위한 단자(34, 44) 및 상기 단자(34, 44)와 상기 전극(32, 42)을 연결하는 수단(36, 46)을 구비한다. 또한, 보론 도핑 영역(10)의 저항을 측정하기 위하여 보론 도핑 영역(10) 양측에 전극(12, 14)을 구비하고, 상기 전극(12, 14)을 세포 계수장치의 외부에 구비된 저장 측정 장치(미도시)에 연결하기 위한 단자(16, 18) 및 상기 단자(16, 18)와 상기 전극(12, 14)을 연결하는 수단(17, 19)을 구비한다.

도 3c는 배치된 전극 위에 SU-8로 만든 채널을 도시하는 것으로, 보론 도핑 영역(10)에 빛이 투과되도록 하고 보론 도핑 영역(10)을 보호하기 위하여 형성된 산화막(70)위에 음성감광제(negative photoresist)인 SU-8(60)을 도포하여 자외선 마스크로 노광함으로써 세포를 포함한 액체가 이동하는 채널(62)을 만든다. 상기 채널(62)은 그 외에 유리막(50; 도 2)을 덮어 모세관(20; 도 2)을 형성하게 된다.

도 4a 내지 도 4k는 본 발명에 의한 세포 계수장치의 공정 단계별 수직단면도로서, 본 발명에 의한 세포 계수장치 제조 방법을 도 4a 내지 도 4k를 참조하여 설명하면 다음과 같다.

도 4a를 참조하면, 실리콘 기판(80)을 세척하는 단계로서, 400 μ m 두께, < 100> 방향, N 타입의 실리콘 기판(80)을 황산(H₂SO₄), 과산화수소(H₂O₂)의 1:2 희석액에 5분 동안 세척(cleaning)하여 오염물질인 금속잔류물, 유기물(metal/organic)을 제거한다.

도 4b를 참조하면, 실리콘 기판(80)상에 산화막(72, 74)을 형성하는 단계로서, 실리콘 기판(80)을 산화로에 넣어 1000℃에서 6시간 동안 DI(deionized) water와 함께 산화시켜 약 1.2 μ m의 산화막(72, 74, 실리콘 산화물(SiO₂-Silicon Oxide))을 형성한다.

도 4c를 참조하면, 보론 도핑 영역의 산화막(72)을 제거하는 단계로서, HMDS를 윗면에 0.3 μ m정도 회전도포(250rpm에서 4초간, 5000rpm에서 35초간)하여 90℃에서 100초 동안 소프트 베이킹(soft baking)한 후 AZ 5214 포토레지스트(photoresist)를 1.3 μ m정도 회전도포(250rpm에서 4초간, 5000rpm에서 35초간)하여 90℃에서 50초 동안 소프트 베이킹한다. 보론(boron)을 도핑할 영역을 갖는 자외선(UV) 마스크로 16mW/cm² 세기로 10초 동안 자외선 노광한다. AZ 300MIF 현상액에서 1분 동안 현상한 후, 오븐(oven) 또는 핫 플레이트(hot plate)에서 120℃로 100초간 하드 베이킹(hard baking)한다. 보론 도핑 영역의 산화막을 제거하기 위해 BHF(Buffered HF) 용액에 13분 동안 산화막(72)을 식각한다. 식각된 기판을 TCE 용액에서 3분간 세척하고 아세톤(aceton) 용액에서 3분간 세척하며 메틸 알콜(methyl alcohol) 용액에서 3분간 세척하여 유기물인 포토레지스트를 제거한 후 질소(N₂)로 건조한다.

도 4d를 참조하면, 보론 도핑 영역(10)을 생성하는 단계로서, 저항검출기의 저항패턴을 생성하기 위해 보론 확산 공정을 수행한다. 1000℃에서 1시간동안 3브롬화붕소(BBr₃) 액체 소스를 이용해 깊이 0.2 μ m정도 프리-디포지션(pre-deposition)을 수행한다.

도 4e를 참조하면, 산화막을 제거하는 단계로서, HF 용액에 13분 동안 산화막을 완전히 제거한다.

도 4f를 참조하면, 보론 도핑 영역(10)을 보호하기 위한 산화막(70)을 형성하는 단계로서, 도포된 보론 층을 확산 공정(drive-in)에 의해 1050℃에서 2시간 동안 1.6 μ m 깊이로 확산시킨다. 그 다음, 저항 검출기의 역할을 하는 보론 도핑 영역(10)에 빛이 투과되도록 하고 보론 도핑 영역을 보호하기 위해 확산공정이 끝나면 동일한 온도인 1050℃에서 수증기를 흘려 30분 동안 2000 Å 높이의 산화막(70, 실리콘 산화물; SiO₂)을 형성한다.

도 4g를 참조하면, 보론 도핑 영역(10)의 저항을 측정하기 위한 콘택트 홀(11, 13, contact hole)을 생성하는 단계로서, 보론 도핑 영역(10)의 양끝에 콘택트 홀(11, 13)을 기판의 윗면에 만든다. HMDS를 윗면에 0.3 μ m 정도 회전도포(250rpm에서 4초간, 5000rpm에서 35초간)하여 90℃에서 50초 동안 소프트 베이킹한다. 전극 영역을 갖는 자외선(UV) 마스크로 16mW/cm² 세기로 10초 동안 자외선 노광한다. AZ 300MIF 현상액에서 1분 동안 현상한 후, 오븐 또는 핫 플레이트에서 120℃로 100초간 하드 베이킹한다. 전극 영역의 산화막을 제거하기 위해 BHF(Buffered HF) 용액에 150초 동안 산화막(70)을 식각한다. 식각된 기판을 TCE 용액에서 3분간 세척하고 아세톤 용액에서 3분간 세척하며 메틸 알콜 용액에서 3분간 세척하여 유기물인 포토레지스트를 제거한 후 질소(N₂)로 건조한다.

도 4h를 참조하면, 전기삼투를 위한 전극(32, 42)과 저항변화측정을 위한 전극(12, 14)을 생성하는 단계로서, 기판(80)의 윗면에 전기삼투를 위한 전극(32, 42)과 저항변화측정을 위한 전극(12, 14)을 생성하기 위해 도금을 하고 패턴을 해서 식각한다. 도금 기초(plate base)를 형성하기 위해 크롬/금(Cr/Au) 금속층을 차례로 열 증발기(thermal evaporator)를 사용하여 증착한다. 크롬(91, 92, 93, 94)은 기판과 금(12, 14, 32, 42)의 접착성을 향상시키기 위해 전류 55A~60A 사이에서 약 2분 동안 2.5~3 Å/s의 증착 비율로 총 350 Å을 증착한다. 금은 전류 55A~60A 사이에서 약 2분 동안 10 Å/s의 증착 비율로 총 1200 Å을 증착한다. 기판의 윗면에 전면 증착된 금속층은 HMDS를 0.3 μm 정도 회전도포(250rpm에서 4초간, 5000rpm에서 35초간)하여 90℃에서 100초 동안 소프트 베이킹한 후, AZ 5214 포토레지스트를 1.3 μm 정도 회전도포(250rpm에서 4초간, 5000rpm에서 35초간)하여 90℃에서 50초 동안 소프트 베이킹한다. 전극 영역을 제외한 도금층을 제외하기 위한 자외선(UV) 마스크로 16mW/cm² 세기로 10초 동안 자외선 노광한다. AZ 300MIF 현상액에서 1분 동안 현상한 후, 오븐 또는 핫 플레이트에서 120℃ 100초간 하드 베이킹한다. 금과 크롬을 각각 에칭할 수 있는 식각액을 HCl:H₂O₂의 3:1 비율로 혼합하여 1분간 침액한 후 헹군다. 다시 기판을 TCE 용액에서 3분간 세척하고 아세톤 용액에서 3분간 세척하며 메틸 알콜 용액에서 3분간 세척하여 유기물인 포토레지스트를 제거한 후 질소(N₂)로 건조한다.

도 4i를 참조하면, SU-8(60)을 회전도포하는 단계로서, 세포가 포함된 용액이 이동하는 통로인 채널을 만들기 위해 SU-8(70wt% EPON, 30wt% GBL)을 회전도포(200rpm에서 4초간, 1000rpm에서 35초간)한다. 그 다음 95℃에서 15분 동안 프리 베이킹(pre baking)한다.

도 4j를 참조하면, SU-8(60)에서 채널을 형성하는 단계로서, 음성감광제(negative photoresist)인 SU-8에서 채널을 만들기 위한 자외선 마스크로 300~400mJ/cm² 세기로 365nm 근처에서 노광한다. 95℃에서 15분 동안 포스트 베이킹(post baking)하고 PGMEA(propyleneglycol monomethylether acetate)에서 15분 동안 현상하고 세척한다. 200℃에서 30분 동안 하드 베이킹한다. SU-8의 완벽한 제거를 위해 끓는 NMP(1-methyl-2-pyrrolidinone) 또는 O₂ 애싱(ashing)을 사용한다.

도 4k를 참조하면, 유리판을 덮어 저장부(30, 40) 및 모세관(20)을 형성하는 단계로서, 500 μm 두께의 유리판(50)에 1mm 드릴로 구멍을 내고 접착을 위해 AZ 5214를 유리면에 바르고 SU-8(60)에 접착시킨다. 견고한 접착을 위해 접착 부위 위에 10분간 힘을 유지한다. 유리판을 덮음으로써, 유리판(50)과 실리콘 기판(80)위의 산화막(70) 사이에 모세관이 형성되고 유리판(50)에 있는 구멍과 실리콘 기판(80)이 저장부(30, 40)를 형성하게 됨으로써, 본 발명에 따른 일 실시예인 세포 계수장치가 완성된다.

이와 같이 본 발명이 속하는 기술분야의 당업자는 본 발명이 그 기술적 사상이나 필수적 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 실시될 수 있다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적인 것이 아닌 것으로서 이해해야만 한다. 본 발명의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 등가개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본 발명의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

발명의 효과

상술한 바와 같이, 본 발명에 따른 세포 계수장치는 MEMS 공정을 사용하여 일체화되고 소형화되어 고가의 기존 대형 세포 계수기를 대체할 수 있다. 또한, 세포 감지부로서 빛에 반응하는 전기저항 검출기를 이용하여 살아있는 세포와 죽어있는 세포의 수를 신속하면서도 정확하게 차별 계수하는 기능을 제공함으로써 기존의 복잡한 생화학적 차별 계수 방법을 대신할 수 있다.

(57) 청구의 범위

청구항 1.

세포를 염색하고 조사된 빛의 투과량에 따라 세포를 계수하는 세포 계수장치에 있어서,

실리콘 기판 위에 형성되고 상기 계수하고자 하는 세포가 포함된 액체가 이동하는 통로인 모세관;

상기 모세관 일단에 형성되고 상기 모세관에 주입되는 세포가 포함된 액체가 저장되는 주입세포 저장부;

상기 모세관 타단에 형성되고 상기 모세관에서 유출되는 세포가 포함된 액체가 저장되는 유출세포 저장부; 및

상기 실리콘 기판 내에 형성되고 상기 모세관의 소정의 부위 하부에 위치하며 상기 모세관을 이동하는 세포의 염색 정도에 따라 투과되는 빛의 투과량에 따라 변화되는 저항을 측정함으로써 세포의 개수를 감지하는 세포 감지부를 포함하고, 상기 모세관, 주입세포 저장부, 유출세포 저장부 및 세포 감지부는 마이크로 전자 기계 장치(MEMS, Micro Electro Mechanical System) 공정을 이용하여 형성되는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치.

청구항 2.

제1항에 있어서, 상기 세포 감지부는 보론(boron)이 도핑되어 형성된 영역인 것을 특징으로 하는 세포 계수장치.

청구항 3.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 세포 염색은 트리판 블루(trypan blue)로 된 것을 특징으로 하는 세포 계수장치.

청구항 4.

제3항에 있어서, 세포의 생사여부에 따른 세포 염색의 차이를 이용하여 살아있는 세포와 죽어있는 세포를 각각 계수하는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치.

청구항 5.

제1항 또는 제2항에 있어서, 모세관 전기영동(electrophoresis)에 의해 상기 세포가 이동되도록 하기 위하여 상기 모세관 양측에 전극 기능을 하는 연결부를 더 구비하여 상기 세포 계수장치의 외부에 구비된 전원 공급 장치에 연결하도록 하는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치.

청구항 6.

제5항에 있어서, 상기 모세관 전기영동은 전기삼투(electro osmosis)인 것을 특징으로 하는 세포 계수장치.

청구항 7.

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 세포 감지부의 저항을 측정하기 위하여 상기 세포 감지부 양측에 전극 기능을 하는 연결부를 더 구비하여 상기 세포 계수장치의 외부에 구비된 저항 측정 장치에 연결하도록 하는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치.

청구항 8.

세포를 염색하고 조사된 빛의 투과량에 따라 세포를 계수하는 세포 계수장치를 제조하는 방법에 있어서,

실리콘 기판의 소정 부위에 보론 도핑 영역을 생성하는 제1 단계;

상기 보론 도핑 영역의 저항을 측정하기 위해 상기 보론 도핑 영역의 양끝에 전극 기능을 하는 금속층을 형성하는 제2 단계;

상기 보론 도핑 영역의 상부에 세포가 포함된 액체가 흐르는 모세관을 형성하기 위한 채널을 형성하는 제3 단계; 및

유리판에 구멍을 뚫고 상기 실리콘 기판 위에 접착시켜 상기 채널의 양끝에 세포가 포함된 액체가 저장되도록 하는 저장부를 형성하고 상기 실리콘에 형성된 채널과 유리판 사이에 모세관을 형성하는 제4 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치 제조방법.

청구항 9.

제8항에 있어서, 상기 제1 단계 다음에 상기 보론 도핑 영역에 빛이 투과되도록 하고 상기 보론 도핑 영역을 보호하기 위한 산화막을 형성하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치 제조방법.

청구항 10.

제8항에 있어서, 상기 제3 단계에서 채널을 형성하기 위해 음성감광제(negative photoresist)인 SU-8을 도포하는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치 제조방법.

청구항 11.

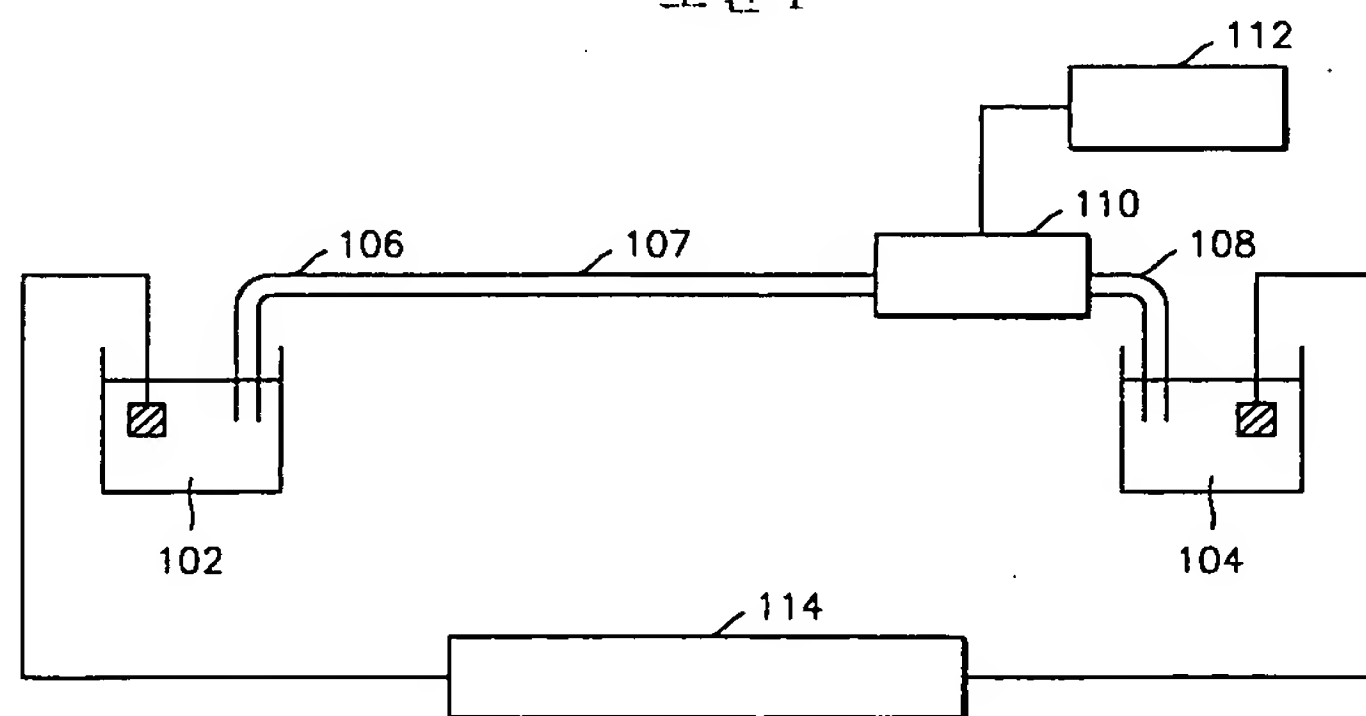
제8항에 있어서, 상기 제2 단계의 금속층 형성시에 모세관 전기영동에 의해 상기 세포가 이동되도록 하기 위하여 상기 모세관 양측에 전극 기능을 하는 금속층을 더 형성하는 것을 특징으로 하는 세포 계수장치 제조방법.

청구항 12.

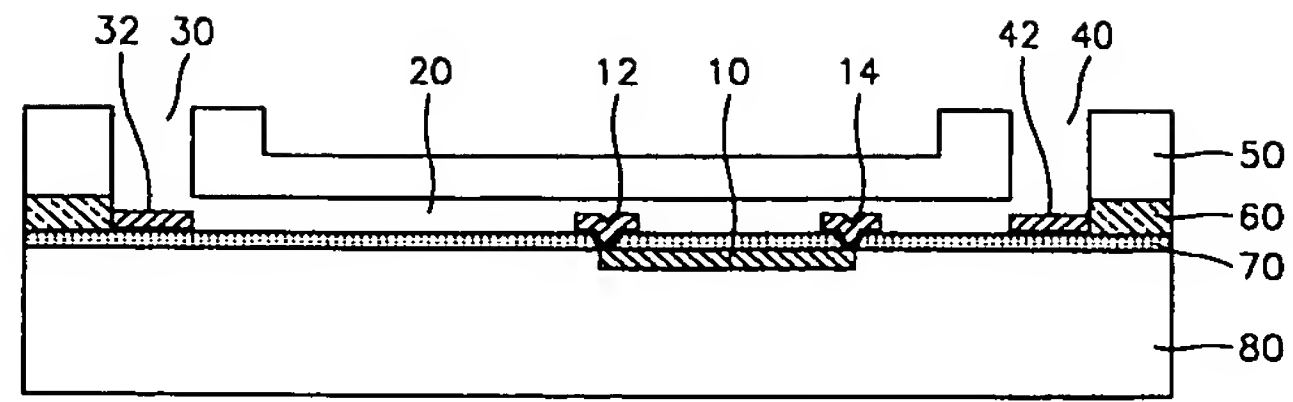
제11항에 있어서, 상기 모세관 전기영동은 전기삼투인 것을 특징으로 하는 세포 계수장치 제조방법.

도면

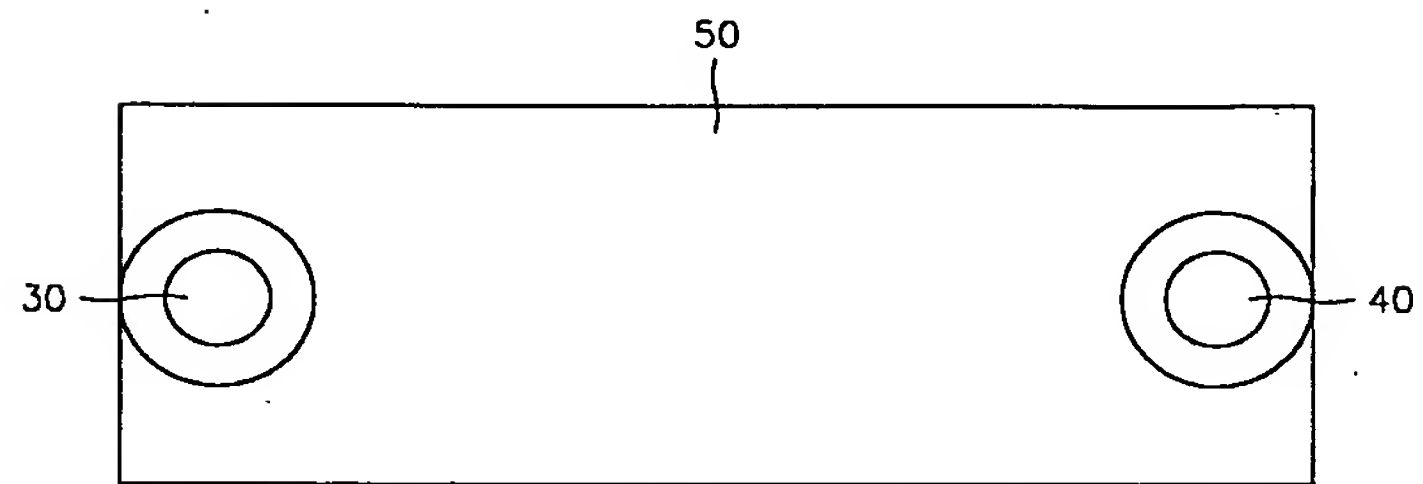
도면 1



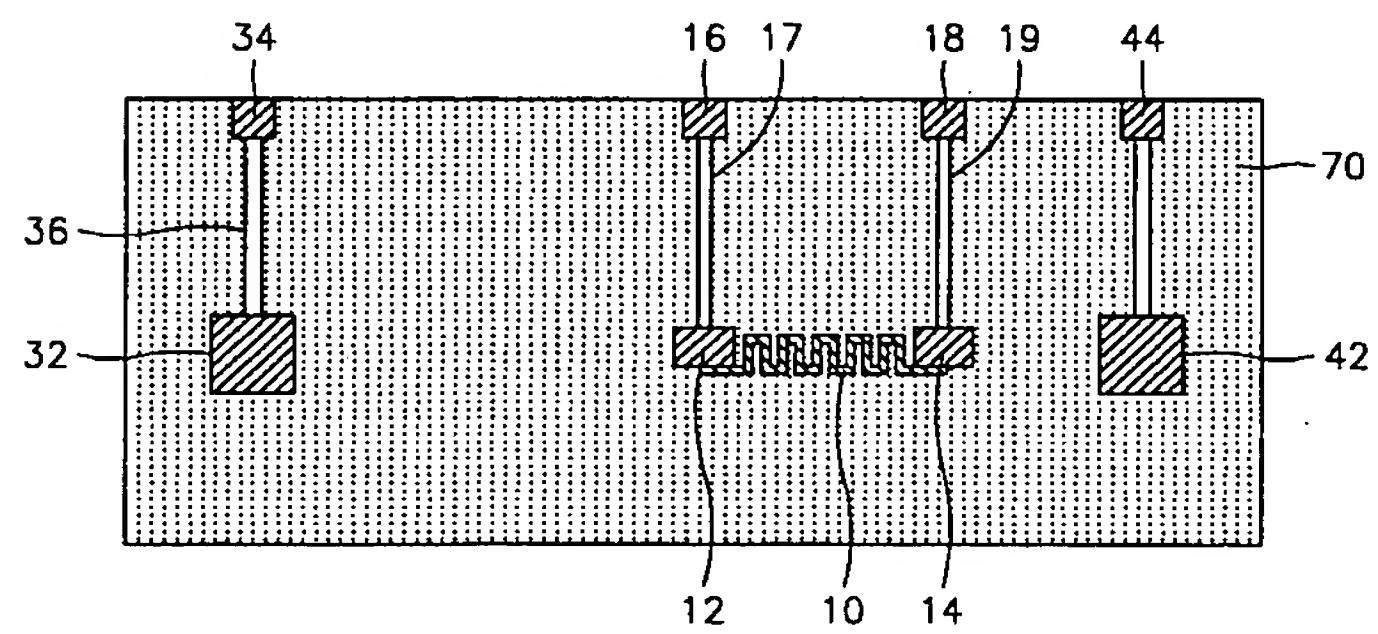
도면 2



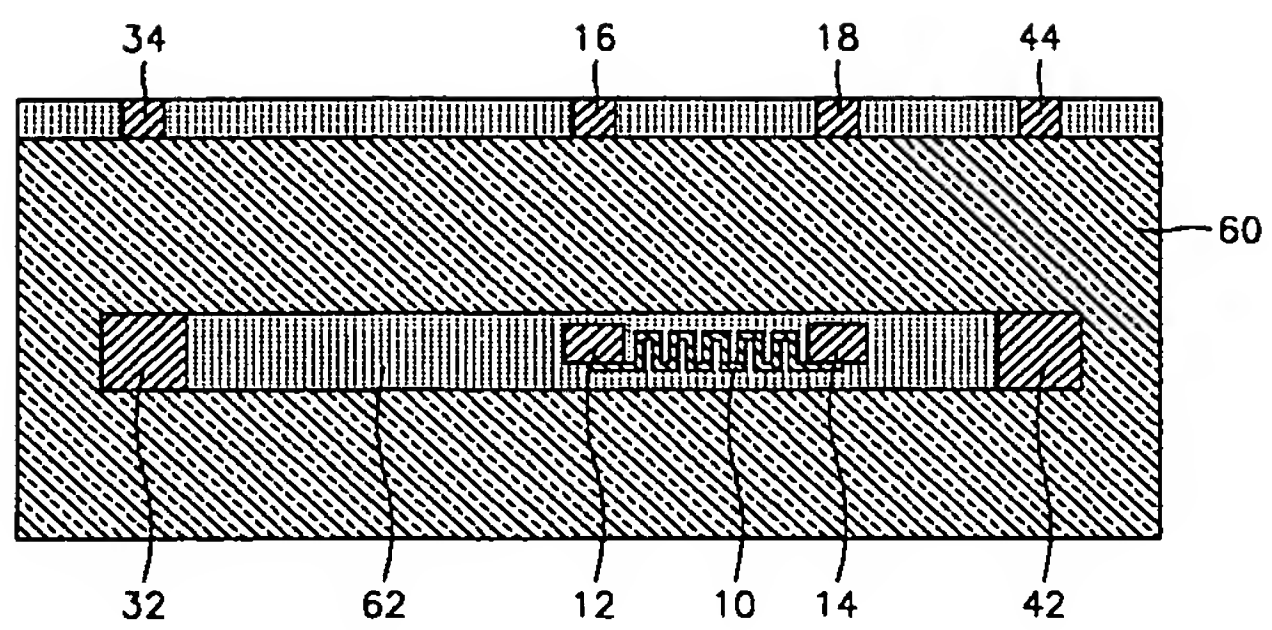
도면 3a



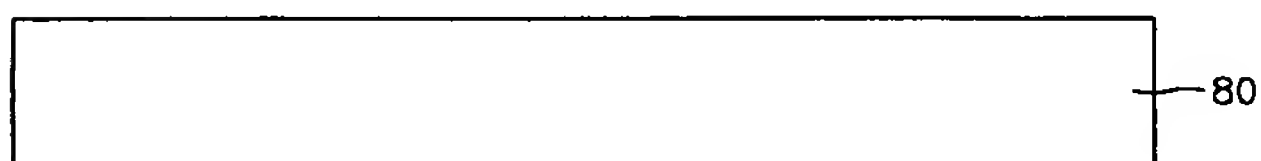
도면 3b



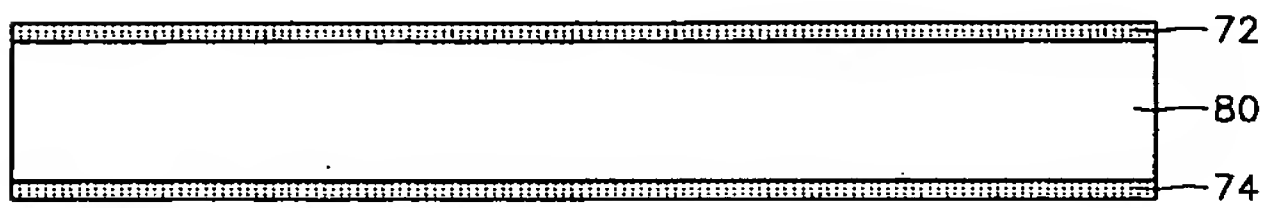
도면 3c



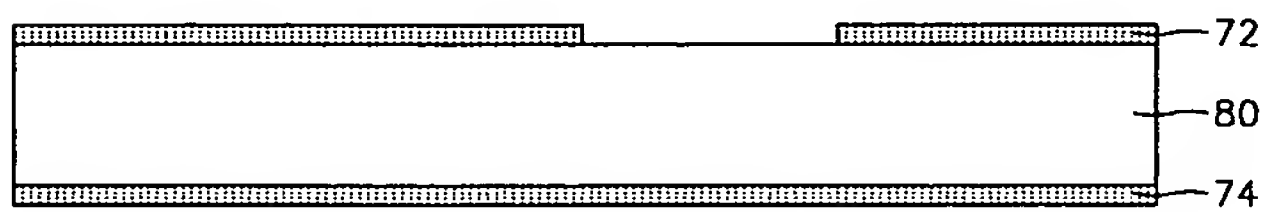
도면 4a



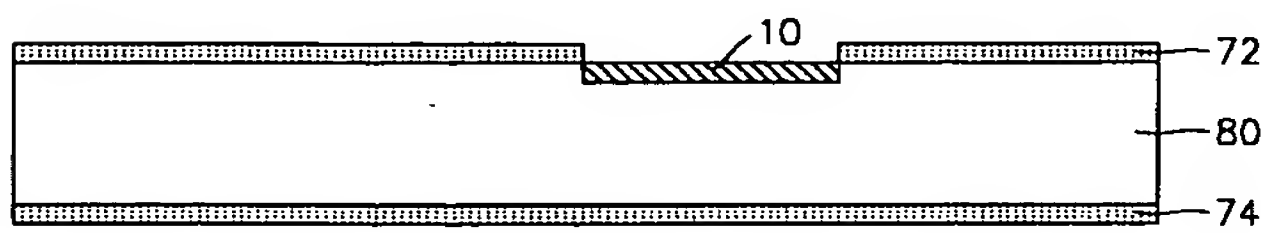
도면 4b



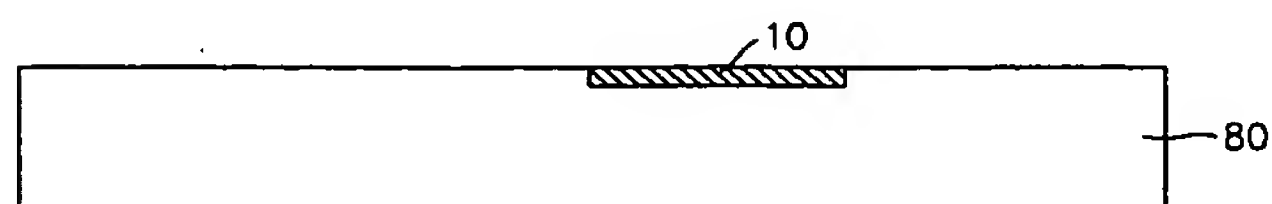
도면 4c



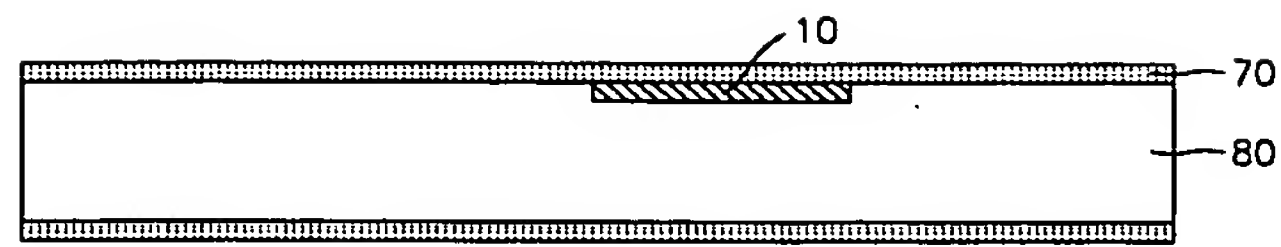
도면 4d



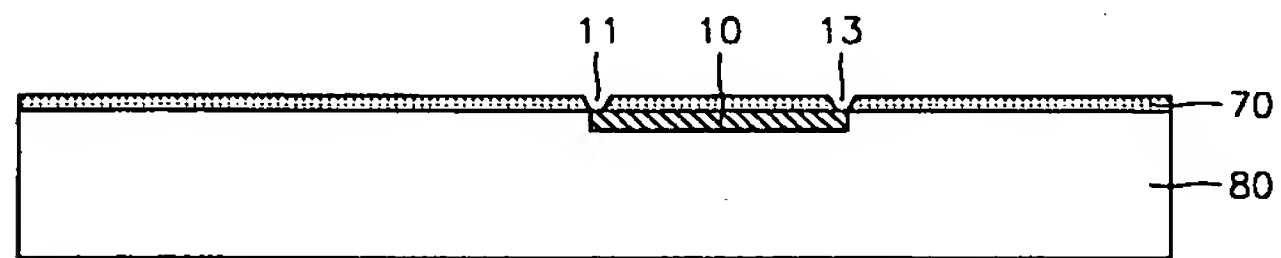
도면 4e



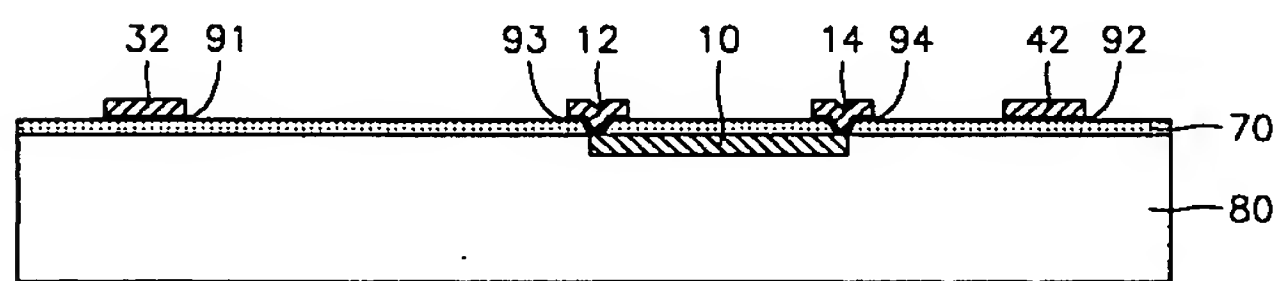
도면 4f



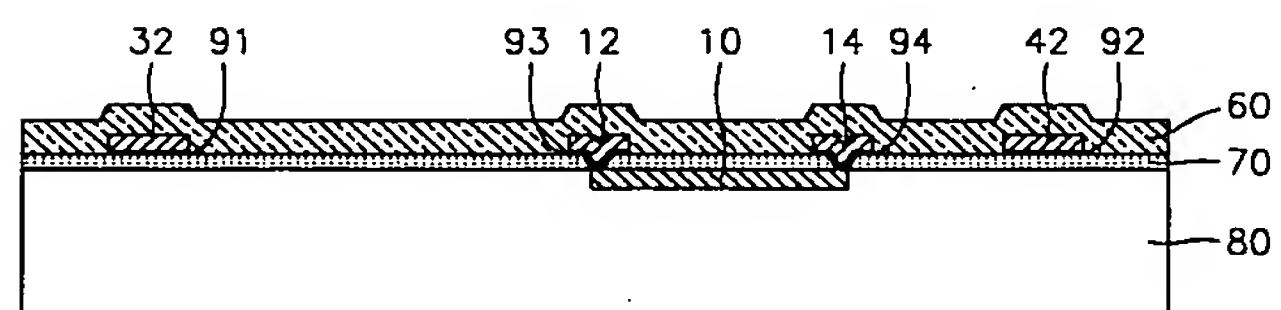
도면 4g



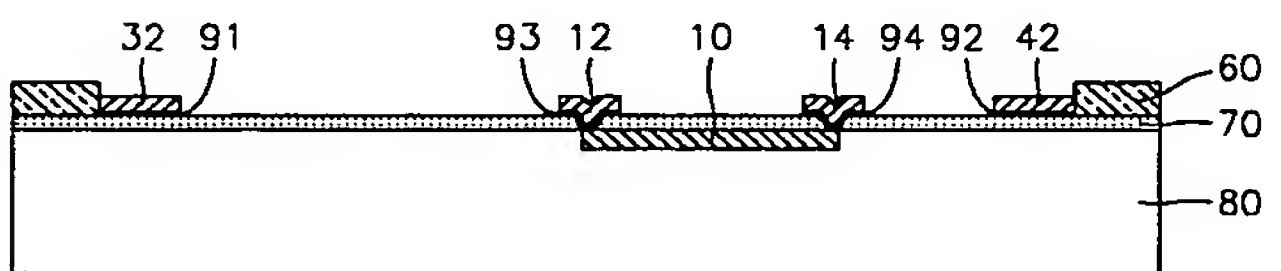
도면 4h



도면 4i



도면 4j



도면 4k

